

高脂質血症に関する研究

— 血清リポ蛋白の Polyacrylamide Gel Disc
電気泳動法による知見を中心に —

上 田 晃 生

札幌医科大学内科学第1講座 (主任 和田武雄教授)

山 田 弘 仁

北海道老年医学研究振興会研究所 (所長, 札幌医科大学名誉教授新保幸太郎)

Studies on Hyperlipidemia

— On the Findings of Serum Lipoprotein Analysed by
Polyacrylamide Gel Disc Electrophoresis —

Teruo UEDA

*Department of Internal Medicine (Section 1), Sapporo Medical College
(Chief: Prof. T. Wada)*

Konin YAMADA

*Hokkaido Geriatric Research Institute
(Director: An Emeritus Professor K. Shimpo)*

Hyperlipidemias were investigated in sera from healthy adults and from aged people over 60 yrs old. The lipoprotein pattern was analysed in the sera by use of polyacrylamide gel disc electrophoresis according to WHO classification. Studies were further pursued on the hyperlipidemic condition of various diseases. With the focus of attention on the correlation between hyperlipidemias, the frequency of incidence of mid bands of β - and pre- β -lipoproteins was calculated and the cholesterol concentration in the α -lipoprotein was determined. The results obtained are as follows.:

1. The frequency of incidence of hyperlipidemia was about 10% in the healthy adult controls, and was about 21% in the aged group. Analysing the types of these hyperlipidemic sera following WHO criteria, it was observed that the most common type was IIa.

2. The type analyses were performed also in hyperlipidemia associated with diseased subjects, and type IIb showed the most highest incidence in subjects with diabetes mellitus and patients with apoplectic episodes. However, type IIa was the most common type associated with cases with cerebral arteriosclerosis, ischemic heart disease and essential hypertension. In patients with fatty liver, it was observed that common types coming under this group were IIb and IV, and in patients with hyperlipidemia induced by corticosteroid treatment, the types were IIa, IIb and IV.

3. The frequency of incidence of mid bands of β - and pre- β -lipoproteins increased with age in normolipidemic subjects. These lipoproteins were seen more frequently in the hyperlipidemia of IIa and IIb than in normolipidemic aged controls.

4. It was found that serum α -lipoprotein concentration did not show any significant difference between young and aged controls. However, a significant decrease of α -lipoprotein concentration was noted in the hyperlipidemia of type IV, compared with normolipidemic subjects and hyperlipidemia of IIa and IIb.

(Received August 19, 1977 and accepted September 29, 1977)

緒 言

高脂質血症は遺伝的背景の下に家族性に出現する一次性のものと、内分泌疾患をはじめとして腎ならびに肝疾患な

どに合併して認められる二次性のものとに大別されるが、高脂質血症そのものについては単に血中脂質の増加ということだけではなく、その存在様式の上で chylomicron, very low density lipoprotein (VLDL, もしくは pre- β

リポ蛋白) および low density lipoprotein (LDL, もしくは β リポ蛋白) の1つ, ないしは2つが正常域を越えて増加する状態を高リポ蛋白血症と呼ぶ。したがって高脂質血症には, 増加するリポ蛋白 (Lp) 分画の性質を明らかにすることによって Fredrickson 分類¹⁾, あるいは WHO 分類²⁾ などの型別判定が行われる。その型分類には超遠心分離法による各 Lp 濃度の測定が最良とされるが, 手技そのものは必ずしも臨床応用に適した方法とは云い難い。著者らは血清総 cholesterol (Ch) 濃度, ならびに血清 triglyceride (TG) 濃度の測定と同時に, polyacrylamide gel (PAG) disc 電気泳動法により血清 Lp を分画し, 各 Lp 濃度の増減を判定して高脂質血症の型分類に応用した。

これまでも高脂質血症に関する報告は, 多数にみられるが, 本邦人についての高脂質血症の型別頻度, あるいは諸種疾患に合併する高脂質血症の型分類に関する報告³⁻⁵⁾ は必ずしも多くない。この点から著者らは, まず一般成人ならびに高齢者にみられる高脂質血症群の型別頻度を調査し, さらに各種疾患に合併する高脂質血症群についても同様に型分類を行った。同時に血清 Lp の PAG disc 電気

泳動法そのものについて, しばしば pre- β および β -Lp の中間領域にも Lp bands (mid bands) の出現を認めるので, この mid bands (M-bd) について研究を進めた。なお高脂質血症型の判定に関連してこれまで α -Lp に対する研究はほとんどみられないので, 今回はこれらの研究に加えて α -Lp 濃度に関する検討を行った。

方 法

1. 対 象

高脂質血症の型別頻度を求めるためには, 諸検査の結果他に異常を認められない都市生活者の中から60歳未満の成人対照群として男子77名(平均39.4歳), 女子202名(平均39.3歳), 計279名を選び, 高年対照群としては一農村の住民健康診断にさいして得られた60歳以上の男子143名(平均69.4歳), 女子163名(平均68.8歳), 計306名(A群)と, 都市における一老人ホーム生活者, 男子65名(平均74.5歳), 女子83名(平均74.7歳), 計148名(B群)を選んだ。一方患者中の高脂質血症については, 男子168名, 女子175名, 計343名を得た。これらの対象についてはすべて12時

Table 1 Reagent solutions and buffer for the PAG disc electrophoresis of serum lipoproteins

1. Separating gel solution
 - A) 12.00 g of Tris (hydroxymethyl) aminomethane, 0.10 ml of N,N,N',N'-Tetramethyl-ethylenediamine and 15.00 ml of 1 N-HCl are dissolved in water to 100 ml (pH 8.8).
 - B) 13.50 g of Acrylamide monomer and 0.40 g of N,N'-Methylenebisacrylamide are dissolved in water to 100 ml.
 - C) 0.14 g of Ammonium persulfate/100 ml (water)
Combine solutions A, B and C in the ratio of 1:1:2, by volume.
2. Concentrating gel solution
 - D) 5.98 g of Tris (hydroxymethyl) aminomethane, 0.46 ml of N,N,N',N'-Tetramethyl-ethylenediamine and 48.00 ml of 1 N-HCl are dissolved in water to 100 ml (pH 6.7).
 - E) 10.00 g of Acrylamide monomer and 2.50 g of N,N'-Methylenebisacrylamide are dissolved in water to 100 ml.
 - F) 8.0 mg of Riboflavin/100 ml (water).
 - G) 40.00 g of Sucrose/100 ml (water).
Combine solutions D, E, F and G in the ratio of 1:2:1:4, by volume.
3. Sample gel solution
 - H) 12.80 g of Acrylamide monomer and 3.20 g of N,N'-Methylenebisacrylamide are dissolved in water to 100 ml.
Combine solutions D, H, F and G in the ratio of 1:2:1:4, by volume.
4. Dye solution

Add 20 mg of Sudan Black B to 50 ml of Ethylene glycol, mix well and dilute to 100 ml with water.
5. Buffer

6.00 g of Tris (hydroxymethyl) aminomethane and 28.80 g of Glycine are dissolved in water to 1,000 ml (pH 8.4).

間以上空腹状態を保った早朝に採血して血清を分離し、脂質その他の分析に供した。高脂質血症の判定には下記の基準に従った。

2. 脂質測定法

血清総 Ch の測定は酵素法（デターミナ TC, 協和醗酵工業株式会社）により、血清 TG は acetylaceton 法⁶⁾により測定した。

3. PAG disc 電気泳動法

方法の手順については Table 1 にとりまとめた。全般的には Fings らの方法⁷⁾に準じたが、今回は特に pre- β および β -Lp の分離に適当なゲルの条件を吟味してこれを調製した。内径 6 mm, 長さ 70 mm のゲル管を使用し、その下端をパラフィルムで封じて垂直に立て、分離用ゲル液 0.7 ml を注入した。この上に蒸留水 0.1 ml を静かに重畳し、断気下に室温で 40 分間静置してゲル化を行った。次いでゲル管を転倒して蒸留水を除く（このさい濾紙を用いて残った水分を出来るだけ除く）。さらに濃縮用ゲル液 0.1 ml を注入し、蒸留水 0.1 ml を静かに重畳して 20 分間室温で光重合せしめる。再びゲル管を転倒して濾紙による水分除去を図る。ここで試料血清 0.02 ml, 染色液 0.02 ml および試料ゲル液 0.15 ml を注入してからゲル管上端をパラフィルムで封ずる。ゲル管を数回転倒して血清、染色液および試料ゲル液を混和し、血清 Lp の染色を完了する。この上に緩衝液をゲル管上端まで静かに重畳し、室温で 40 分間光重合を行わしめる。泳動装置は Disc electrophoresis Model 1200 (Canalco Co.) を使用した。上槽を陰極、下槽を陽極として両槽共に同一緩衝液を使用し、ゲル管 1 本当り 4 mA, 25 分間室温で泳動した。Lp パターンは microzone densitometer Model R-I-110 (Beckman Co.) を使用してその積算値から求めた。

4. 高脂質血症の型分類

われわれの得て来た本邦成人の正常血清脂質測定値は男

女平均の上で、18~29 歳群では総 Ch 190.1 ± 24.5 mg/100 ml (m \pm S.D.), TG 87.1 ± 27.5 mg/100 ml, 30~59 歳群では総 Ch 208.2 ± 26.7 mg/100 ml, TG 82.6 ± 26.3 mg/100 ml, 60 歳以上群ではそれぞれ 217.3 ± 28.5 mg/100 ml および 104.2 ± 34.9 mg/100 ml である。したがって本研究においては血清総 Ch 濃度が 250 mg/100 ml 以上、あるいは血清 TG 濃度が 150 mg/100 ml 以上を示す例を高脂質血症とした。また高脂質血症の型分類は血清総 Ch ならびに TG の測定値と、血清 Lp の PAG disc 電気泳動像に基づき WHO の分類基準²⁾に従って行った。なおこの場合 IIb 型の判定には血清総 Ch ならびに TG 濃度の両者が前述の基準値以上を示し、PAG disc 電気泳動像の上では pre- β ならびに β -Lp の増加を認め、かつ β -Lp が pre- β -Lp よりも多いことを条件とした。また IV 型の判定には血清 TG 濃度が 150 mg/100 ml 以上を示し、血清 Lp 像においては chylomicron を欠き、かつ pre- β -Lp が β -Lp よりも多いことを条件とした。高脂質血症における PAG disc 電気泳動上の代表的な Lp パターンを Fig. 1 に示す。

5. 血清 α -Lp の Ch 濃度の測定

血清 0.2 ml に 0.025% ヘパリンを含む 0.005 M CaCl_2 4 ml を加えて chylomicron, pre- β および β -Lp を不溶化し、4°C 下に 11,000 rpm, 20 分間遠沈した。上清について PAG disc 電気泳動法ならびに抗ヒト α_1 -Lp 血清（ヤトロ社）を用いた免疫化学的な方法により、chylomicron, pre- β および β -Lp が含まれないことを確め、一方沈降物を 0.9% NaCl で溶解して PAG disc 電気泳動法を施し、かつ抗ヒト α_1 -Lp 血清（Behringwerke Lab.）による免疫化学的方法によって α -Lp を検出せず、 α -Lp が上清内に完全に分離されていることを確認した。この上清 2 ml について CHCl_3 -methanol (2-1) 30 ml を用いて脂質抽出を行い、evaporater により乾固した後、isopropanol に溶解して前述の方法によりその Ch 量を測定した。

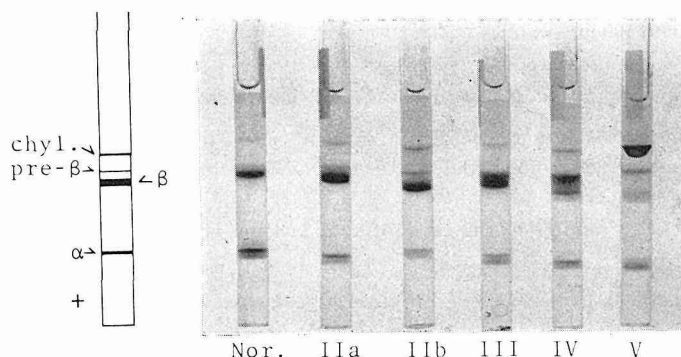


Fig. 1 PAG disc electrophoresis of serum lipoproteins from normolipidemic (Nor.) and hyperlipidemic (IIa, IIb, III, IV and V) subjects.

成 績

A. 高脂質血症の頻度と、その型分類について

1. 青壮年群および高年群別の血清脂質測定成績

(a) 青壮年群について：一括して結果を Table 2 に示す。すなわち、男子の血清総 Ch は 183.8 ± 35.4 mg/100 ml, 女子では 194.8 ± 34.1 mg/100 ml を示し、女子の方が男子よりもわずかに高値を示す ($0.05 < p < 0.1$)。血清 TG は男子では 112.6 ± 40.6 mg/100 ml, 女子では 96.6 ± 50.9 mg/100 ml とこの場合はわずかに男子の方が高い ($0.05 < p < 0.1$)。

(b) 高年群について：一括して Table 3 に示す。A 群男子の血清総 Ch 濃度は 191.0 ± 40.2 mg/100 ml であり、女子のそれは 207.3 ± 42.8 mg/100 ml で女子が男子よりも明らかに高値を示した ($p < 0.05$)。血清 TG 濃度におい

ては男子の 96.7 ± 58.8 mg/100 ml に対して女子は 109.5 ± 64.2 mg/100 ml とこれも女子が男子より高い傾向を示した ($0.05 < p < 0.1$)。一方 B 群男子の血清総 Ch 濃度は 180.9 ± 29.2 mg/100 ml, 女子のそれは 204.5 ± 34.4 mg/100 ml とこの場合にも女子が明らかに男子より高値を示した ($p < 0.05$)。

Table 2 Serum lipid levels in young and middle ages

No. of Cases	Male	Female
	77	202
(Age mean)	39.2	39.3
Total Cholesterol (mg/100 ml)	183.8 ± 35.4	194.8 ± 34.1
Triglyceride (mg/100 ml)	112.6 ± 40.6	96.6 ± 50.9

Table 3 Serum lipid levels in old ages

No. of Cases	Group A		Group B	
	Male	Female	Male	Female
	143	163	65	83
Age (mean)	69.4	68.8	74.5	74.7
Total Cholesterol (mg/100 ml)	191.0 ± 40.2	207.3 ± 42.8	180.9 ± 29.2	204.5 ± 34.4
Triglyceride (mg/100 ml)	96.7 ± 58.8	109.5 ± 64.2	114.6 ± 46.8	131.4 ± 42.6

Group A: Subjects living in a village Group B: Subjects living in an old people's home

Table 4 Frequency of hyperlipidemias in young and middle ages

No. of Cases	Male	Female	Total
	77	202	279
Hyperlipidemia (WHO Type)	8 (10.4%)	20 (9.9%)	28 (10.0%)
II a	6 (75.0)	16 (80.0)	22 (78.6)
II b	1 (12.5)	2 (10.0)	3 (10.7)
IV	1 (12.5)	2 (10.0)	3 (10.7)

Table 5 Frequency of hyperlipidemias in old ages

No. of Cases	Group A			Group B		
	Male	Female	Total	Male	Female	Total
	143	163	306	65	83	148
Hyperlipidemia (WHO Type)	27 (18.9%)	43 (26.3%)	70 (22.9%)	6 (9.2%)	21 (25.3%)	27 (18.2%)
II a	19 (70.4)	27 (62.8)	46 (65.8)	4 (66.7)	16 (76.2)	20 (74.1)
II b	3 (11.1)	3 (7.0)	6 (8.6)	2 (33.3)	2 (9.5)	4 (14.8)
IV	5 (18.5)	13 (30.2)	18 (25.7)	0	3 (14.3)	3 (11.1)

Group A: Subjects living in a village Group B: Subjects living in an old people's home

また血清 TG 濃度も男子の 114.6 ± 46.8 mg/100ml に対して女子は 131.4 ± 42.6 mg/100 ml と、女子がやや高値の傾向を示した ($0.05 < p < 0.1$)。これを A 群および B 群の成績の上で比較すると、血清総 Ch 濃度には著明な差異は見られないが、TG 濃度は男女共に B 群の方が高値を示す傾向にあった。

2. 青壮年群および高年群別の高脂質血症の頻度

(a) 青壮年群について：成績を一括して Table 4 に示す。男子では 77 名中 8 名 (10.4%)、女子では 202 名中 20 名 (9.9%) に高脂質血症が見出され、両者の間には頻度の差を認めない。これを型別に分類すると、男子の高脂質血症には II a 6, II b 1, および IV 1 名が認められ、女子においては II a 16, II b 2, および IV 2 名を認めた。すなわち II a 型が高脂質血症のうち男子については 75.0%, 女子では 80.0% を占める。

(b) 高年群について：その頻度は Table 5 のごとくである。すなわち、A 群においては男子 143 名中 27 名 (18.9%)、女子では 163 名中 43 名 (26.3%) と、男子よりも女子に高頻度に認められた。それらの型分類では、男子では II a 70.4%, II b 11.1%, および IV 18.5% であった。これに対して女子では II a 62.8%, II b 7.0%, および IV 30.2% であった。一方 B 群における高脂質血症は男子 65 名中 6 名 (9.2%) であるのに対して、女子は 83 名中 21 名 (25.3%) と高頻度にみられた。これらについて型別判定を行うと、男子においては II a 66.7%, II b 33.3% であるのに対して、女子では II a 76.2%, II b 9.5%, および IV 14.3% で、この場合の男子群には IV 型を認めず、代って II b 型がやや多い。一方女子群は IV 型 14.3% を示すが、A 群女子の 30.2% より少ない。

3. 諸種疾患における高脂質血症の型分類

(a) 青壮年群・高年群別ならびに性別にみた型分類

今回対象とした種々の疾患群における高脂質血症例 343 名を Table 6 に示す。年齢別高脂質血症の頻度をみると、60 歳未満 152 例については、男子 85 例中 II b 35 例 (41.2%) と最も多く、次いで IV 18 例 (21.2%), II a ならび

に V 各 16 例 (18.8%) の順であり、女子 67 例においては、II a 40 例 (59.7%)、次いで II b 19 例 (28.4%), IV 8 例 (11.1%) の順を示した。60 歳以上 191 例については、男女共に II a が最も多く、それぞれ 39 例 (47.0%), 67 例 (62.0%)、次いで II b が男子 24 例 (28.9%), 女子 30 例 (27.8%), IV が男子 20 例 (24.1%), 女子 10 例 (9.3%) を示した。なお V 型は女子 1 例のみにみられた。全体を通じて I ならびに III 型を見出すことは出来ず、V 型を示した例は 17 例中 16 例までが 60 歳未満の男子であった。

(b) 青壮年群・高年群別ならびに疾患別にみた型分類

基礎疾患ならびに合併疾患別にこれを見るべく、60 歳未満と以上の 2 群に分けて調べた結果を Table 7 a および 7 b に示す。なお脳出血および脳梗塞は一括して脳卒中として示し、脳動脈硬化症の診断は脳卒中を除いて文部省研究班による診断基準⁸⁾に基づいた。

60 歳未満群では 152 例中糖尿病が 30 例と最も多く、次いで脳卒中 22 例、脂肪肝 14 例および本態性高血圧症 12 例である。60 歳以上群では 191 例中脳卒中 45 例と最も多く、次いで糖尿病 33 例、本態性高血圧症 30 例、脳動脈硬化症 22 例および虚血性心疾患 21 例の順を示す。

比較的頻度の高い疾患について型別吟味を進めると、糖尿病では両群共に II b 型が多く、次いで II a, IV および V 型の順を示した。脳卒中においても両群を通じて高脂質血症型は糖尿病のそれとよく類似する。脳動脈硬化症は当然 60 歳以上群が多く、60 歳未満群は 4 例のみであるが、この場合は両群共に II a 型が最も多く、次いで II b および IV 型の順で認められた。虚血性心疾患も 60 歳未満、以上群共に II a 型が多い。次いで II b および IV 型の順を示した。本態性高血圧症では、60 歳未満群においては II a および II b 型が多く、60 歳以上群では II a 型が明らかに多い。次いで II b および IV 型の順に見出された。脂肪肝はすべて 60 歳未満の例であるが IV 型が多く、次いで II b, V および II a 型の順を示す。この場合 pre- β -Lp の増加を示すものが多く注目された。肥満症は 60 歳以上群においては II a 1 例を認めたに過ぎないが、60 歳未満の群では II a, II b

Table 6 Types of hyperlipidemia from inpatients and outpatients

Type	Age < 60			Age \geq 60		
	Male	Female	Total	Male	Female	Total
II a	16 (18.8%)	40 (59.7%)	56 (36.9%)	39 (47.0%)	67 (62.0%)	106 (55.5%)
II b	35 (41.2)	19 (28.4)	54 (35.5)	24 (28.9)	30 (27.8)	54 (28.3)
IV	18 (21.2)	8 (11.1)	26 (17.1)	20 (24.1)	10 (9.3)	30 (15.7)
V	16 (18.8)	0	16 (10.5)	0	1 (0.9)	1 (0.5)
Total	85	67	152	83	108	191

Table 7 a *Distribution and clinical diagnosis of hyperlipidemic patients according to type (Age<60)*

Diagnosis	IIa	IIb	IV	V	Total
Diabetes Mellitus	10	12	5	3	30
Apoplexia	8	11	2	1	22
Cerebral Atherosclerosis	2	1	1	0	4
Ischemic Heart Disease	4	1	2	1	8
Essential Hypertension	5	4	2	1	12
Fatty Liver	2	4	5	3	14
Obesity	3	2	0	2	7
Chronic Hepatitis	1	3	3	0	7
Cholelithiasis	0	1	0	0	1
Hypothyroidism	1	1	1	0	3
Nephrotic Syndrome	0	1	1	1	3
Obstructive Jaundice	4	2	0	0	6
Marie's Ataxia	2	0	0	0	2
Rheumatoid Arthritis	2	0	0	0	2
Lung Cancer	2	0	0	0	2
Steroid induced Hyperlipidemia					
S. L. E.	0	2	1	0	3
Polymyositis	1	1	0	0	2
Acute Myelocytic Leukemia	0	1	0	0	1
Chronic Myelocytic Leukemia	0	0	1	0	1
Erythroleukemia	0	0	1	0	1
Asthma Bronchiale	1	0	0	0	1
Rheumatoid Arthritis	1	1	0	0	2
Others					
Various Diseases	5	5	1	1	12
Cases without Abnormal Physical Findings	3	1	0	3	6
Total	56	54	26	16	152

および V 型のいずれの例もが認められた。慢性肝炎は 60 歳以上の群は少数例で IIa, IIb および IV 型各 1 例であり, 60 歳未満の群においては IIb ならびに IV 型が比較的多くみられた。閉塞性黄疸では両群共に IIa が多く, IIb を示す例も認められたが他の型は見出せなかった。

副腎皮質ステロイドの投与によってもたらされた高脂質血症例は 60 歳以上例は 4 例のみで, そのすべてが IIa を示し, 60 歳未満群においては IIa 3, IIb 5, および IV 型 3 例と, β -Lp のみならず pre- β -Lp の増加を示す例も少なからず認められ注目された。それらの基礎疾患としては 60 歳未満群では全身性エリテマトーデス, 多発性筋炎, 急性ならびに慢性骨髄性白血病, 赤白血病, 気管支喘息, リュー

Table 7 b *Distribution and clinical diagnosis of hyperlipidemic patients according to type (Age \geq 60)*

Diagnosis	IIa	IIb	IV	V	Total
Diabetes Mellitus	11	14	7	1	33
Apoplexia	17	20	8	0	45
Cerebral Atherosclerosis	19	5	3	0	27
Ischemic Heart Disease	14	6	2	0	22
Essential Hypertension	17	8	5	0	30
Obesity	1	0	0	0	1
Chronic Hepatitis	1	1	1	0	3
Cholelithiasis	1	1	2	0	4
Obstructive Jaundice	3	1	0	0	4
Marie's Ataxia	1	0	0	0	1
Rheumatoid Arthritis	0	0	1	0	1
Lung Cancer	1	0	0	0	1
Steroid induced Hyperlipidemia					
Aplastic Anemia	1	0	0	0	1
Rheumatoid Arthritis	2	0	0	0	2
Asthma Bronchiale	1	0	0	0	1
Others					
Various Diseases	9	0	1	0	10
Cases without Abnormal Physical Findings	4	1	0	0	5
Total	103	57	30	1	191

マチ様関節炎などがあり, 60 歳以上群では再生不良性貧血, リューマチ様関節炎および気管支喘息が認められ, 年齢のみならず副腎皮質ステロイドを適用された基礎疾患との関係についても考慮の必要があろう。高脂質血症を認めたその他の疾患としては大腸癌, 胃癌, 多発性骨髄腫, 胃潰瘍, 慢性胃炎, 重症筋無力症, 肺性心などであるが, 一方の諸検査の上において異常所見を見出せなかった高脂質血症は, 60 歳未満群に 6 例, 60 歳以上群に 5 例を認めた。これらの中で血清 TG 濃度が極めて高値を呈する V 型が 3 例見出されたが, いずれも 60 歳未満で, その経過観察, 家系調査などの上から本態性変化と考えられる興味ある知見を得た。

B. PAG disc 電気泳動による Mid bands の出現および α -Lp 濃度について

1. Mid bands の出現頻度に関する検討

PAG disc 電気泳動による Mid band (M-bd) を Fig. 2 に示した。すなわち pre- β と β の中間領域の移動度を有する Lp bands が見出される。血清脂質濃度正常の対照群について年齢層別にみると, その出現頻度は Table 8 のごとくである。すなわち, 20~39 歳 17.5%, 40~59 歳 25.8%,

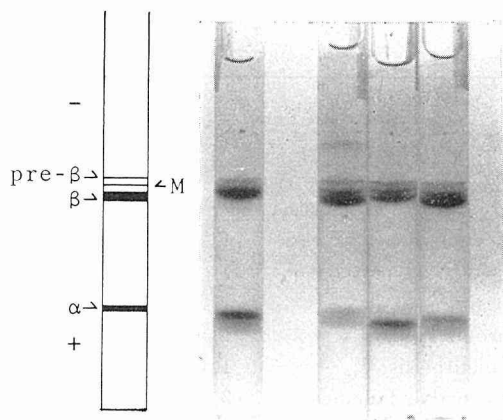


Fig. 2 PAG disc electrophoresis of serum lipoproteins from the subjects with and without Mid bands (M).

Table 8 Incidence of mid bands in sera from normolipidemic subjects

	No. of Sera	Mid bands	%
20-39 yrs			
Male	23	4	17.4
Female	40	7	17.5
Total	63	11	17.5
40-50 yrs			
Male	15	5	33.3
Female	25	6	24.0
Total	40	11	28.5
60- yrs			
Male	134	52	38.9
Female	104	36	34.0
Total	238	88	37.0

Table 9 Incidence of mid bands in sera from patients with hyperlipidemia

Type	No.	Mid bands	%
IIa	132	65	49.2
IIb	100	41	41.0
IV	47	11	23.4
V	15	2	13.3
Total	294	119	40.5

また60歳以上37.0%に認められ、加齢と共にその出現頻度は高まり、その増加現象は有意である ($p < 0.05$).

その型別出現頻度を Table 9 に示す. すなわち、高脂質血症全体について M-bd は40.5%に見出され、血清脂質濃度が正常な高年群での37.0%よりもその頻度は高いが、これらの間には有意差を見出せない. 高脂質血症の型別には IIa に49.2%, IIb に41.0%, IV に23.4%, V に13.3%と、出現頻度は型によって異なる. すなわち血清 β -Lp の増加(血清 Ch が高値)する場合により多く M-bd は出現し、血清 pre- β あるいは chylomicron の増加(血清 TG が高値)を示す場合にむしろ低い.

2. 血清 α -Lp 濃度に関する検討

高脂質血症は主として β -Lp, pre- β -Lp および chylomicron を主体に問題とされ、その WHO 分類においても血清 α -Lp の増減には考慮されるところが少ない. 一方、血清 Lp の PAG disc 電気泳動においては、むしろ α -Lp 濃度の低下を推測させる例が散見される. これらの点から血清 α -Lp 濃度の指標としてその総 Ch 濃度を測定したが、結果は Table 10 に示すごとくである.

Table 10 Total cholesterol levels in serum α -lipoproteins (mg/100 ml serum)

Young controls		
Male	(9)	71.5 \pm 13.7
Female	(11)	70.3 \pm 7.3
Aged controls		
	(12)	65.3 \pm 13.4
Hyperlipidemias		
IIa	(21)	68.1 \pm 14.1
IIb	(10)	65.3 \pm 12.2
IV	(12)	47.7 \pm 7.6*

(No. of cases) * $p < 0.01$

すなわち、血清脂質濃度が正常の20~39歳男子および女子の血清 α -Lp 総 Ch は、それぞれ71.5 \pm 13.7および70.3 \pm 7.3 mg/100 ml であり、60歳以上の男女平均については65.3 \pm 13.4 mg/100 ml を示し、高年群に低下の傾向を認めるが、有意差は見出せなかった. 一方高脂質血症の型別に血清 α -Lp 総 Ch をみると IIa においては68.1 \pm 14.1, IIb 65.3 \pm 12.2 mg/100 ml であるのに対して、IV のみが47.7 \pm 7.6 mg/100 ml と低値を示し、以上の血清脂質濃度正常群および IIa ならびに IIb 型高脂質血症群に比較して、有意の α -Lp 総 Ch の減少が認められた.

総括ならびに考按

高脂質血症が高リポ蛋白血症の立場から分類される所以については、遊離脂肪酸を除く他のすべての血清脂質がアポ蛋白と結合して血液中ではリポ蛋白として存在し、しかも主要な血清 Lp 構成成分である chylomicron, VLDL, LDL および HDL の起源、機能および代謝過程とも関連して、高脂質血症の成立機序をその面から理解することが好都合であるからと云えよう。他方、高脂質血症の型分類には各 Lp 濃度の正確な測定が必要とされ、それには超速心分離法が基本とされるが、多くの症例の検討には種々の制約を否定し得ない。したがってより簡易で、かつ精度のすぐれた型分類法に関する研究⁹⁻¹¹⁾が試みられて来た。

一方高脂質血症そのものについては血清総 Ch 濃度、あるいは血清 TG 濃度が正常値を越えて上昇する状態を云うが、血清脂質濃度の正常値そのものについても、特に約束された一定値が確定されているわけでもない。

著者らはこれまで本邦健康成人について上述の方法で測定を続けて来たが、結論的には Fredrickson ら¹⁾の示す正常人血清総 Ch 濃度、あるいは TG 濃度に比較すると、一般的に低値である。これまでの結果によって血清総 Ch 濃度の正常上界は 250 mg/100 ml、血清 TG 濃度について 150 mg/100 ml を以て上限とした。

さて今回の知見においては、健康青壮年群の血清脂質濃度をみると、血清総 Ch 濃度は男子に比較して女子がやや高値を示すが、血清 TG 濃度は女子よりも男子がわずかに高値を示した。しかしいずれも有意の差を示すものではない。一方 60 歳以上の高年群については、農村在住者 A 群と都市老人ホーム生活者の B 群について男女の比較をしたが、血清総 Ch 濃度は両群共に男子よりも女子の方が高値を示す。この点については、さきにも教室の研究¹²⁾において触れ、その後も多くの文献^{13,14)}にみられるところであるが、閉経期以後における女性内分泌機能の変化が大きく関与するものと推測されている。これを血清 TG 濃度の上でも両群共に男子に比較して女子の方が高値を示す傾向にある。しかも A 群と B 群との比較においては、後者の血清 TG 濃度の方が高値を示すが、この点については A 群の平均摂取カロリーが 1,970 Cal であるのに対して、B 群では 2,200 Cal とやや多く、また運動量においては A 群の方が労働時間をより多くもつ。この様な諸条件がおそらくはこの面の差として表われたものであろう。

ところで、これらの群における高脂質血症の頻度をみると、青壮年群においては男子 10.4%、女子 9.9% に認められ、高年群においては A 群男子 18.9%、女子 26.3%、B 群男子 9.2%、女子 25.3% を示した。

まず青壮年群に比較して高年群では明らかに高頻度の高脂質血症を認め、それも男子よりも女子においてより高頻度の傾向を示したが、これを高脂質血症の型別にみると、青壮年群においては II a 型が男子で 75.0%、女子では 80.0% を占める。しかし高年群においては A 群男子 70.4%、女子 62.8%、全体として 65.8% であり、B 群においても男子 66.7%、女子 76.2%、全体では 74.1% と青壮年群に比較して高年群での II a 型出現頻度はやや低い。一方 II b および IV 型に注目すると、青壮年群においては少数例ではあるが、両型共に男子 12.5%、女子 10.0% であり、男女差を見出さない。これに対して高年群においては II b が A 群男子 11.1%、女子 7.0%、全体として 8.6%、B 群では男子 33.3%、女子 9.5%、全体として 14.8% と、一見 B 群男子の II b の出現率が高いが、B 群男子における高脂質血症の頻度は 9.2% であり、II b の例数は 2 例に過ぎないからこれらを考慮に入れると、青壮年群に比較して高年群の II b 型が多いとは云えない。また IV 型については A 群男子 18.5%、女子 30.2%、全体で 25.7% を占め、B 群男子には IV 型を認めない。女子においても 14.3% に過ぎないが、A B 両群を通じて高年群における IV 型高脂質血症の出現率は、青壮年群のそれよりも高い傾向を示した。

次いで患者対象についての結果をみると、高脂質血症は多くの場合、種々の合併疾患を有する例に見出される。60 歳未満群および 60 歳以上群に分けてその型分類を行うと、さきに示した青壮年対照群での型別頻度では II a 型が最も多く、男子 75.0%、女子 80.0% を示したのに対して、60 歳未満の疾患群では、特に男子において II b および IV が II a よりも多く見出され、さらに V も II a とほぼ同率に見出された。この点女子疾患群においては、対照群の型分布との間に大きい差異を示さなかった。

一方高年群の諸種疾患に伴う高脂質血症の型分析結果をみると、高年対照群に比較して、疾患群の男子には II a の出現率がやや低く、男女共に II b の多い傾向を示しはするが、両群の型別頻度分布は極めて近似しており、その点がむしろ注目された。V 型は 17 例中 16 例までが 60 歳未満の男子に見出されたが、この点も興味ある結果と云えよう。

これらの高脂質血症の型分析成績を基礎疾患別に検討すると、糖尿病では年齢の高低にかかわらず II b が最も多いが、同時に II a、IV および V 型にわたり多彩な型分布を呈する。糖尿病においては血清総 Ch 濃度の増加よりも TG 濃度の増加が著明であるとの報告¹⁵⁾も見られるが、ラットに実験的にインスリン欠乏を起こすと Lp lipase 活性の低下がみられることが指摘¹⁶⁾されている。一方高インスリン血症を呈するインスリン抵抗性糖尿病においては、肝における TG 合成亢進および肝からの TG 分泌の増加が

みられ、これが高 TG 血症をもたらしものと推測¹⁷⁾されている。Adlersberg および Eisler¹⁸⁾は糖尿病の重症度と血清脂質濃度の上昇との間には著明な平行関係があると報告しているが、今後は糖尿病そのものの病態との関連から血清 Lp パターンの分析を行う必要がある。

次に脳卒中群での高脂質血症には年齢の別なく II b が多かった。五島ら¹⁸⁾によれば脳出血および脳梗塞患者においては血清総 Ch 濃度および TG 濃度の上昇を示す例が多いとされ、小林¹⁹⁾らの報告では血清総 Ch 濃度よりも TG 濃度の高い例に脳卒中が多く認められるとしているが、いずれにしても今回の結果はこれらの成績に一致する。脳卒中を除く脳動脈硬化症および虚血性心疾患においては II a が比較的多く見出された。とくに家族性に出現する II a 型は、末梢動脈の硬化性病変や脳動脈硬化よりも冠動脈硬化の発生進展に関連性をもつとして重視^{20, 21)}されているが、最近では冠動脈硬化の危険因子としてはむしろ IV 型に注目するもの²²⁾もあり問題が残されている。この点本態性高血圧症に伴って見出された高脂質血症には II a が多かったが、60 歳未満の例では必ずしも II a に限らず、各種の型が散見された。

脂肪肝についてこれをみると、高脂質血症はすべて 60 歳未満の例であり、 β -Lp のみの増加を呈する例は少なく、II b および IV 型が多く、さらに V 型も少なくない点は他の疾患には見られない特徴と云えよう。実験的脂肪肝の成立機序に関する知見²³⁾は多いが、臨床的に見出される脂肪肝の成因については必ずしも明らかでない。肥満症がしばしば脂肪肝ならびに高 TG 血症を合併する点から、丸浜²⁴⁾は糖代謝との関連において三者の成因を高インスリン血症に求めているが、その面からの画一的な説明ですべてを律し得ないことは言うまでもない。Eaton²⁵⁾は肝における VLDL のアポ蛋白部分の合成に対してグルカゴンが抑制的に働くことを明らかにし、De Oya ら²⁶⁾は脂肪肝の成因にグルカゴンが関与する可能性を示唆している。また慢性肝炎においても II b および IV 型の高脂質血症を見出すが、この点も小笠原および鬼原²⁷⁾の研究では高インスリン・高グルカゴン血症との関係、特に後者の関係を重視すべきものとして興味ある知見を報告している。

なお今回は黄疸を認めない胆石症においても II a, II b および IV 型の高脂質血症が散見された。また閉塞性黄疸においては II a が多く、次いで II b を呈する例を認めたが、この点は Fredrickson らの成績¹⁾に一致する。近年は閉塞性黄疸にさいして Lp-X の出現が注目されているが、これはその蛋白部分が albumin とアポ C から成る Lp²⁸⁾であろうとされている。しかしわれわれの PAG disc 電気泳動法では Lp-X はとらえられなかった。

内分泌疾患では甲状腺機能低下症に伴う高脂質血症^{29, 30)}が問題とされ、ネフローゼ症候群でも脂質の血中上昇³¹⁾が注目されるが、今回は症例数が少くて型別分析による全貌をとらえることは出来なかった。この点副腎皮質ステロイド投与によってもたらされたと推測される高脂質血症では、60 歳以上の例はすべてが II a を呈したが、60 歳未満の例では II a, II b および IV 型にわたり、その出現型には β -Lp, pre- β -Lp, あるいはその両者の増加等、基礎疾患のいかんと共にこの面への影響にはかなり多様な条件が背景にあることを思わせた。

その他胃癌等に際して見出された高脂質血症例については特に病態との関連性を明らかにすることは出来なかったし、さらに理学的にも臨床検査成績の上からも他に異常を見出さない高脂質血症のみのみられた例は、60 歳未満に 6 例、60 歳以上に 5 例を数えた。この中高度の高 TG 血症を呈する男子 3 例の V 型を認めたが、少くとも諸検査に異常なく、特に動脈硬化症との関係を疑わしめる所見も見出し得ず、今後の追求を必要としよう。

以上、高脂質血症に関する年齢別・性別・疾患別頻度と、特にそのさいの型別頻度について結果を検討したが、今回の分析には血清 Lp 中の chylomicron, pre- β -Lp および β -Lp の増加に着目し、さらに PAG disc 電気泳動に際してしばしば認められる M-bd についても検討を加えた。

すなわち、これを血清脂質濃度が正常な対照群男女別ならびに年齢層別にみると、加齢と共にその出現頻度は上昇して、60 歳未満と以上群の間には推計学的に有意の差が見出された。一方これを高脂質血症の型別に追求すると、II a および II b 型での出現頻度が特に高く、その成績は高年対照群にみられる頻度よりもさらに高頻度であった。しかし IV および V 型においての M-bd 出現頻度は低かった。M-bd の出現は臨床的には冠動脈硬化の危険因子^{32, 33)}として注目されているが、直接証明に乏しい。その本態については Fredrickson 一派³⁴⁾が明らかにした sinking pre- β すなわち Lp (a) リポ蛋白と同一のものか、あるいは pre- β -Lp から β -Lp への異化過程に出現するものであるかについても明らかでない。著者ら³⁵⁾はさらに M-bd の脂質組成が pre- β -Lp と β -Lp の中間的な組成を有することを確認したが、アポ蛋白側からの検討を完了するにいたっていない。今回の出現頻度についての成績においても、臨床考察によって手がかりを得るまでにはいたらなかった。

ところで血清 α -Lp は一般に高脂質血症の型分類には考慮されないが、 α -Lp のアポ蛋白³⁶⁾は VLDL の異化に際して Lp lipase³⁷⁾ および lecithin cholesterol acyltransferase (LCAT)³⁸⁾の活性化に必要な因子であることが知られている。血清 α -Lp 濃度の指標として α -Lp 内総 Ch 濃

度の測定を、高脂質血症との関連において検討したが、血清脂質濃度の正常者においては血清 α -Lp 濃度には性差ならびに加齢による変動を見出せなかった。しかし高脂質血症の中でも IV 型においては α -Lp 濃度の明らかな低下が認められた。 α -Lp 濃度の低下が冠動脈硬化の進展に関連性を有するとの報告³⁹⁾もみられるところから、その機能を考える時には、 α -Lp 濃度の減少は IV 型高脂質血症の成因との間になんらかの関係を有する可能性が推測され、興味ある結果と考えられた。

結 論

健康青壮年群ならびに高年対照群別に高脂質血症の頻度を求め、これらと諸種疾患に伴う高脂質血症について PAG disc 電気泳動による型分析を行い、さらにこの電気泳動パターンの上で M-bd の出現率を調べた。また α -Lp 濃度についても検討を加えて以下の知見を得た。

1) 青壮年群では男女の別なく、高脂質血症の頻度は共にはば 10% 前後を示した。この点高年群の頻度は男女平均で青壮年群の約 2 倍の増加を示し、女子においてより高頻度であった。型別においては両群共に IIa 型を多く認めたが、高年群では型分析上においても多少男女間の差異がうかがわれた。

2. 高年群を農村在住者と都市老人ホーム生活者として比較を試みると、後者の方に血清 TG 値の上昇を認めた。型別分析の上では、両者共に IIa の頻度には差異を認めない。農村群は男女共に IIb よりも IV 型が多く、都市群男子には IV 型を見出さなかった。全体としての男女平均では IV より IIb を多く認めた。

3. 諸種疾患に伴う高脂質血症についてその型頻度を検討するに、糖尿病・脳卒中では IIb が多く、IIa, IV の順を示し、脳動脈硬化症・虚血性心疾患・本態性高血圧症においては IIa が高頻度に認められた。脂肪肝においては IIb, IV および V 型を認めた。さらに副腎皮質ステロイド投与による高脂質血症には IIa, IIb および IV 型が見出され、基礎疾患の状態とステロイド投与に対する反応との間の多様な条件の関与がうかがわれた。

4) PAG disc 電気泳動にみられる血清 Lp の M-bd の出現頻度は加齢と共に高まる。またその出現率は IIa および IIb 型が高い。しかしその出現機序との関係を積極的に示唆する臨床知見は得られなかった。

5. 血清 α -Lp 濃度は加齢によって特別変化を示さないが、IV 型での低下が目され、その意味では IV 型の高脂質血症の成立機序に関連して考察を加えた。

〔本研究は北海道老年医学研究振興会研究費の助成を受けて行なわれたものである〕

文 献

- 1) Fredrickson, D. S., Levy, R. I. and Lees, R. S.: Fat transport in lipoproteins—An integrated approach to mechanisms and disorders. *New Engl. J. Med.* **276**, 34-44, 94-103, 148-156, 215-225, 278-281 (1967).
- 2) Bulletin, WHO.: Classification of hyperlipidemias and hyperlipoproteinemias. **43**, 891-908 (1970).
- 3) 浅野英一郎: 高脂質血症の疫学. *慶応医学* **47**, 359-374 (1970).
- 4) 葛谷文男, 吉峰 徳, 北川道弘: シンポジウム・高脂血症の基礎と臨床, (1) 日本人高脂血症の疫学. *日内会誌* **63**, 3-8 (1974).
- 5) 脇屋義彦, 鈴木孝治, 羽黒信義, 岡田了三: 外来患者における血清脂質の臨床的検討—都市群と漁村群の比較—, *動脈硬化*, **4**, 237-241 (1976).
- 6) Fletcher, M. J.: A colorimetric method for estimating serum triglyceride. *Clin. Chim. Acta* **22**, 393-397 (1968).
- 7) Fings, C. S., Foster, L. B. and Cohn, P. S.: Electrophoretic separation of serum lipoproteins in polyacrylamide gel. *Clin. Chem.* **17**, 111-114 (1971).
- 8) 沖中重雄 (代表者): 動脈硬化症の諸要因特に日本人における特殊性. *文部省研究報告集録—医学および薬学編, 総合研究—* **2**, 229-246 (1961).
- 9) Havel, R. J.: Typing of hyperlipoproteinemias. *Atherosclerosis* **11**, 3-6 (1970).
- 10) Levy, R. I.: Classification and etiology of hyperlipidemias. *Fed. Proc.* **30**, 829-834 (1971).
- 11) 内藤周幸: 血漿リポ蛋白—総論—, *代謝*, **12**, 3-20 (1975).
- 12) 吉田礼子: 老化の病態生理学的研究—血清蛋白組成の変化と老化度について—. *札幌医誌* **16**, 297-314 (1959).
- 13) Follis, L. C., Kaplan, R., Martin, R. S. and Stare, F. J.: Some aspects of the gonadal regulation of cholesterol metabolism. *Am. J. Physiol.* **193**, 47-51 (1958).
- 14) Searcy, R. L., Carroll, II, V. P., Davis, W. H. and Bergquist, L. M.: Atherolipid numbers, An expression of serum-cholesterol and serum-lipoprotein relationship. *Lancet* **2**, 1196 (1960).
- 15) Adlersberg, D. and Hisler, L.: Circulating lipid in diabetes mellitus. *J. A. M. A.* **170**, 1261-1265 (1959).
- 16) Schnatz, D. and Williams, R. H.: The effect of acute insulin deficiency in the rat on adipose

- tissue lipolytic activity and plasma lipids. *Diabetes* **12**, 174-178 (1963).
- 17) Topping, D. L. and Mayes, P. A.: The immediate effects of insulin and fructose on the metabolism of the perfused liver-changes in lipoprotein secretion, fatty acid oxidation and esterification, lipogenesis and carbohydrate metabolism. *Biochemistry* **126**, 295-311 (1972).
- 18) 五島雄一郎, 村上恵一, 中村治雄, 後藤正博, 中村康正, 島津邦男, 美原 博, 近藤宏英: 膜血管障害患者の血清脂質に関する研究. *高齢医学* **5**, 194-199 (1967).
- 19) 小林逸郎, 藤田 勉, 間下信昭, 前沢透憲, 山崎博男: 脳血管障害における血清脂質と血小板凝集能の関連. *動脈硬化* **4**, 293-298 (1976).
- 20) Guravich, J. L.: Familial hypercholesterolemia xanthomatosis, Preliminary report 1, Clinical electrocardiographic and laboratory consideration. *Am. J. Med.* **26**, 8-29 (1959).
- 21) Harlan, W. R., Graham, J. B. and Ester, H. E.: Familial hypercholesterolemia, Genetic and metabolic study. *Medicine* **45**, 77-110 (1966).
- 22) Salel, A. F., Riggs, K., Mason, D. T., Amsterdam, E. A. and Zelis, R.: The importance of type IV hyperlipoproteinemias as a predisposing factor in coronary artery disease. *Am. J. Med.* **57**, 897-903 (1974).
- 23) 深沢俊男: 脂肪肝. 原一郎, 細谷憲政, 高橋善弥太, 内藤周幸編集: 臨床脂質化学 577-590, 医学書院, 東京 (1972).
- 24) 丸浜喜亮: 肥満とリポ蛋白代謝, 代謝 **12**, 1213-1220 (1975).
- 25) Eaton, R. P.: Hypolipidemic action of glucagon in experimental endogenous lipemia in the rat. *J. Lipid. Res.* **14**, 312-318 (1973).
- 26) De Oya, M., Prigge, W. F., Swenson, D. E. and Grande, F.: Role of glucagon on fatty liver production in birds. *Am. J. Physiol.* **221**, 25-30 (1971).
- 27) 小笠原徹也, 鬼原 彰: 肝疾患における膵内分泌機能とくに α 細胞機能に関する研究, 第1報—空腹時における基礎的血中グルカゴンならびにインスリン値とアルギニンその他の負荷刺激時におけるそれらの変動について. *日消会誌* **74**, 1042-1048 (1977).
- 28) Seidel, D., Alaupovic, P., Furman, R. H. and McConathy, W. J.: A lipoprotein characterizing obstructive jaundice, II Isolation and partial characterization of the protein moieties of low density lipoproteins. *J. Clin. Invest.* **49**, 2396-2407 (1970).
- 29) Strisower, B., Gofman, J. W., Galioni, E., Rubinger, J. H., O'Brien, G. W. and Simon, A.: Effect on long-term administration of desiccated thyroid on serum lipoprotein and cholesterol levels. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **15**, 73-80 (1955).
- 30) Shore, B. and Shore, V.: An apoprotein preferentially enriched in cholesterol ester-rich very low density lipoprotein (1). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **58**, 1-7 (1974).
- 31) Baxter, J. H., Goodman, H. C. and Havel, R. J.: Serum lipid and lipoprotein alteration in nephrosis. *J. Clin. Invest.* **39**, 455-465 (1960).
- 32) Mead, M. G. and Dangerfield, W. G.: The investigation of "Mid band" lipoproteins using polyacrylamide gel electrophoresis. *Clin. Chim. Acta.* **51**, 173-182 (1974).
- 33) 南部征喜, 合田洋男, 井上哲郎, 上田正人, 仮屋純人, 万江治夫, 太田勝利, 木村 登, 山崎晴一郎: Polyacrylamide gel disk electrophoresis による κ リポ蛋白質の特徴と頻度について. *動脈硬化* **3**, 15-17 (1975).
- 34) Rider, A. K., Levy, R. I. and Fredrickson, D. S.: "Sinking" pre beta lipoprotein and the Lp antigen. *Circulation* **42** III, 10 (1970).
- 35) 山田弘仁, 上田晃生, 和田武雄: 高齢者の血清脂質に関する研究 (第1報)—電気泳動的 β -pre- β 中間帯リポ蛋白について—. *動脈硬化* **3**, 9-13 (1975).
- 36) Morrisett, J. D., Jackson, R. L. and Gotto, A. M. Jr.: Lipoprotein; Structure and function. *Ann. Rev. Biochem.* **44**, 183-207 (1975).
- 37) Brown, W. V. and Baginsky, M. L.: Inhibition of lipoprotein lipase by an apoprotein of human very low density lipoprotein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **46**, 375-382 (1972).
- 38) Fielding, C. J., Shore, V. G., and Fielding, P. E.: A protein cofactor of lecithin cholesterol acyltransferase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **46**, 1493-1495 (1972).
- 39) Miller, G. J.: Plasma high density lipoprotein concentration and development of ischemic heart disease. *Lancet* **1**, 16-19 (1975).